

ヒト神経膠腫の予後に関与する遺伝子異常の解析 Analysis of molecular prognostic factors in human glioma patients

[1] 組織

代表者：山下洋二

(宮城県立がんセンター 脳神経外科)

対応者：富永悌二

(東北大学医学部脳神経外科)

分担者：

加藤俊介 (東北大学加齢医学研究所・
癌化学療法研究分野)

園田順彦 (東北大学医学部脳神経外科)

柴原一陽 (東北大学医学部脳神経外科)

研究費：物件費 20 万円，旅費 0 円

[2] 研究経過

神経膠腫(グリオーマ)は、悪性の性格をもつ脳腫瘍である。中でも Grade III と IV に属する悪性神経膠腫の治療は困難を極めている。

当科ではこれまでに、約 500 例のグリオーマの DNA を抽出しており、これまでにその一部の p53、MGMT 遺伝子のプロモーター領域メチル化、近年発見されたグリオーマに高頻度に変異を認める isocitrate dehydrogenase 1, 2 (IDH1, 2) の遺伝子異常を解析してきた。本共同研究では、これらに加え、グリオーマの予後関連因子である、1 番染色体短腕と 19 番染色体長腕の共欠失(1p19 codeletion)、PTEN 遺伝子の変異(10 番染色体長腕欠失、10q loss)、EGFR 遺伝子の増幅(7 番染色体短腕増幅、7p amplification)、CDKN2A 遺伝子の欠失(9 番染色体短腕欠失、9p homozygous deletion)の解析を目的とした。この解析には近年注目されている染色体レベルの欠失/増幅を簡易に判定できる MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) 法を用いた。共同実験者である加齢医学研究所・癌化学療法研究分野では、本法に必要な機器はすべて揃っている。MLPA 法による解析技術が確立されれば、グリオーマの遺伝子診断研究の飛躍的な発展が期待できる。

現在、IDH1/2 遺伝子変異を有することが悪性グリオ

ーマにおいて予後良好因子であることが明らかになった。さらに、IDH1/2 遺伝子変異は Glioma 発生の初期に起こるとされており、この遺伝子変異の有無でグリオーマは二つに大別される可能性が示唆されてきている。本研究では、grade III グリオーマを対象とし、IDH1/2 遺伝子変異と MLPA 法で得られた結果、臨床データを合わせ、分子生物学的な分類を試みた。

研究打ち合わせは、腫瘍内科の週一回のリサーチミーティングに出席して行い、また MLPA 解析はすべて腫瘍内科のシーケンサーを用いて行った。

MLPA reaction

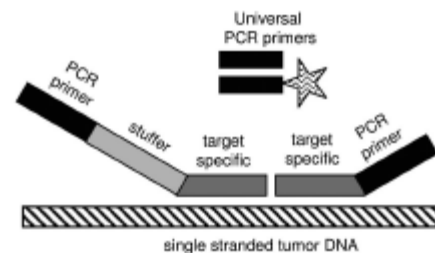


図1：MLPA法の概略

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、当科で治療された Grade III glioma 115 例 (Anaplastic astrocytoma[AA] 56 例, Anaplastic Oligodendroglioma[AO] 32 例, Anaplastic oligoastrocytoma[AOA] 28 例) の MLPA 法を用いた解析結果は、1p19q codeletion 34 例(30%)、7p amplification 21 例(18%)、9p homozygous deletion 9 例(7.8%)、10q loss 10 例(8.7%)であった。

第2に、IDH1/2 遺伝子変異(mut)の頻度は 66%(76/115)であった。これはこれまでの報告である 59-83%と同程度であった。IDH1/2 mut を有することが独立した予後良好因子であった (IDHmut群:中央値に達しない、IDHwt群:26 カ月)。

第3に、IDHmut 群と IDHwild-type (wt)群に

GradeIII グリオーマを大別すると、両者が全くことなる分子生物学的背景をもつことが明らかになった。IDHmut 群には、1p19q coedeltion 及びMGMT メチル化が有意に認められた(p=0.0011、p<0.0001、同順)。一方、IDHwt 群には、7p amplification が有意に認められた(p=0.0045)。

第4に、予後良好とされる IDHmut 群の中でも、特に p53 遺伝子変異や 7p amplification を認める症例は独立した予後不良因子であった。

第5に、予後不良とされる IDHwt 群の中で、さらなる予後不良因子は認めなかった。

以上より、GradeIII グリオーマとこれまで分類されていた集団の中には、IDH1/2 遺伝子変異の有無で、全く異なる予後と分子学的背景を有することが明らかになった。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、宮城県立がんセンター脳神経外科、東北大学脳神経外科及び腫瘍内科で、互いに不足している腫瘍検体、解析機器を補い合いながら解析を行った。MLPA 法による解析技術はほぼ確立され、グリオーマの遺伝子診断研究に寄与するところは大きい。故に、多施設多科とのネットワーク拡大の第一歩を踏み出せたと考えている。

現在、MLPA 法を用いたグリオーマにおける分子生物学的研究は、脳神経外科に属する大学院生の学位論研究になっており、今後も山積みの謎解明に向けて若手研究者の育成、そして新たな事実の解明に向けて発展を続けている。

本研究の成果は、国内外の学会で発表し、国内外の研究者との交流に発展した。

[4] 成果資料

(1) Sonoda Y., Kumabe T., Nakamura T., Saito R., Kanamori M., Yamashita Y., Suzuki H., Tominaga T.: Analysis of *IDH1* and *IDH2* mutations in Japanese glioma patients. *Cancer Sci* 100:196-198,2009.

(2) 柴原一陽、園田順彦、隈部俊宏、齋藤竜太、金森政之、山下洋二、加藤俊介、石岡千加史、渡部みか、富永悌二：Grade III glioma 126 例の予後関連因子の解析。第28回日本脳腫瘍病理学会。2010年5月。シンポジウム

(3) Sonoda Y., Shibahara I., Kumabe T., Saito R., Kanamori M., Yamashita Y., Kato S., Ishioka C., Watanabe M., Tominaga T. : Analysis of *IDH1* and *IDH2* mutations in Japanese glioma patients. The 18th International Conference on Brain Tumor Research and Therapy. May,2010.

(4) 柴原一陽、園田順彦、隈部俊宏、齋藤竜太、金

森政之、山下洋二、加藤俊介、石岡千加史、渡部みか、富永悌二：Molecular classification based on *IDH1/2* gene status in Grade III glioma. 第11回日本分子脳神経外科学会。2010年7月。口演

(5) 柴原一陽、園田順彦、隈部俊宏、齋藤竜太、金森政之、山下洋二、加藤俊介、石岡千加史、渡部みか、富永悌二：Molecular classification based on *IDH1/2* gene status in Grade III glioma. 第69回日本脳神経外科学会学術総会。2010年10月。口演

(6) 柴原一陽、園田順彦、隈部俊宏、齋藤竜太、金森政之、山下洋二、加藤俊介、石岡千加史、渡部みか、富永悌二：Molecular classification based on *IDH1/2* gene status in Grade III glioma. 第28回日本脳腫瘍学会。2010年11月。ポスター

(7) Shibahara I., Sonoda Y., Kanamori M., Saito R., Yamashita Y., Kumabe T., Watanabe M., Suzuki H., Kato S., Ishioka C., Tominaga T: Molecular prognostic factors associated with *IDH1/2* gene mutation in patients with grade III gliomas. *submitted*
)